

APLIKASI BIOINFORMATIKA PADA STUDI GENETIK JAGUNG PROVITAMIN A

Bioinformatics Application on Genetic Study of Provitamin A Maize

Nining Nurini Andayani, Muhammad Aqil, M.B. Pabendon

Balai Penelitian Tanaman Serealia, Jl. Dr. Ratulangi No. 274 Maros, Sulawesi Selatan, Indonesia

Telp. (0251) 8312760, Fax. (0251) 8323909

E-mail : ning02_iceri@yahoo.com

(Makalah diterima, 29 Mei 2017 – Disetujui, 06 Desember 2017)

ABSTRAK

Salah satu jenis jagung fungsional yang diteliti dan dikembangkan di Balai Penelitian Tanaman Serealia (Balitsereal) adalah jagung kaya betakaroten dengan kandungan vitamin A tinggi (provit-A). Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari bioinformatika genetika jagung kaya vitamin A sebagai dasar dalam penentuan pasangan persilangan yang sesuai dalam perakitan varietas. Studi genetik menggunakan 15 inbrida jagung provit-A yang berasal dari dalam dan luar negeri (introduksi CIMMYT Meksiko). Penelitian dilaksanakan pada bulan April hingga Juli 2015 di Laboratorium Biologi Molekuler Balitsereal, Maros, Sulawesi Selatan. Kegiatan penelitian meliputi penyiapan dan scoring data DNA dalam bentuk data biner yang kemudian diolah menggunakan software NTSYS-pc versi 2.1 untuk klastering data. Hasil penelitian menunjukkan analisis keragaman genetik berdasarkan UPGMA terhadap matriks kemiripan genetik menghasilkan nilai koefisien kemiripan genetik dengan kisaran 0,36-0,91. Berdasarkan hasil klastering keragaman genetik 15 inbrida jagung provit-A diperoleh koefisien kemiripan genetik 0,44 dan terbagi ke dalam empat group (group I, II, III dan IV). Group I dan II terdapat pada level *genetik diversity* (GD) 0,44. Group III terdapat pada level GD 0,45 yang terbagi menjadi dua subgroup (A1 dan A2). Group IV terdapat pada level GD 0,503 yang terbagi menjadi empat subgroup (B1, B2, B3 dan B4). Pengelompokan genetik inbrida jagung provit-A yang diuji mengindikasikan variabilitas materi yang dikarakterisasi cukup tinggi sehingga peluang rekombinasi lebih besar dalam perakitan varietas.

Kata kunci: jagung provit A, Bioinformatik, SSR

ABSTRACT

One type of functional maize that is currently studied and developed at Indonesian Cereals Research Institute is rich beta carotene maize (Pro vitamin A maize). This study aims to study the bioinformatics aspect of beta carotene maize as a basis in the determination of appropriate crossing combinations in generating pro vitamin A maize. Genetic studies used 15 high vitamin A maize inbreeds originating from within and outside the country (Cimmyt Mexico introduction). The study was conducted from April to July 2015 at the Molecular Biology Laboratory of Indonesian Cereals Research Institute. Preparation and DNA scoring were performed by using NTSYS-pc 2.1 version for generating dendrogram/ data clustering. The results showed that the genetic diversity analysis based on UPGMA against genetic similarity matrix in the form of a dendrogram of genetic similarity coefficient values obtained ranged from 0.36 to 0.91. The result of genetic diversity clustering of 15 inbreeds of Pro vitamin A maize in genetic similarity of 0.44 is divided into four groups: groups I, II, III and IV. Dendrogram shows groups I and II at the GD level of 0.44. Group III is at the level of GD 0.45 and divided into two sub groups namely A1 and A2. Group IV is at GD 0.503 level divided into four sub groups namely B1, B2, B3 and B4. The genetic clustering of inbreds tested indicated that the variability of the material characterized was relatively high and enables inbreds recombination in developing new varieties..

Key words: pro vitamin A maize, bioinformatics, SSR

PENDAHULUAN

Jagung khusus atau jagung fungsional mempunyai sifat khas, yaitu mengandung nutrisi yang lebih tinggi dibanding jagung pada umumnya. Sifat khusus tersebut dihasilkan oleh gen resesif yang mengatur sifat tertentu pada jagung, antara lain protein tinggi, kaya betakaroten, kaya amilopektin dan lain-lain. Perbaikan sifat khusus pada jagung dapat dilakukan melalui pemuliaan tanaman (Pixley *et al.*, 2006).

Salah satu jenis jagung fungsional yang sedang dikembangkan adalah jagung kaya betakaroten (provit A maize). Jagung provit-A mengandung vitamin A (betakaroten) 8-15 µg/g, lebih tinggi dibanding jagung biasa yang hanya mengandung betakaroten 1,0 µg/g. Betakaroten dapat mencegah defisiensi vitamin A, meningkatkan daya tahan tubuh, membantu pertumbuhan gigi, mencegah buta dini, dan meningkatkan nafsu makan (Science Daily, 2008; Nutra, 2008; Cong Khan *et al.*, 2007; Bwibo dan Neumann, 2003).

Balai Penelitian Tanaman Serealia bekerja sama dengan CIMMYT telah melakukan fortifikasi atau meningkatkan nutrisi mikro jagung. Biofortifikasi pada jagung telah dilakukan sejak 2008 untuk menghasilkan varietas unggul dengan kandungan vitamin A tinggi melalui pemuliaan tanaman. Galur-galur introduksi dari CIMMYT diuji adaptasi agar sesuai dengan iklim Indonesia (Yasin *et al.*, 2014). Perkembangan teknologi marka molekuler (SSR) mempermudah pemuliaan jagung khusus.

Marka SSR merupakan salah satu penanda DNA berdasarkan teknik PCR yang banyak dipakai saat ini, karena sifatnya yang *reproducible*, kodominan, dan dapat mendeteksi variasi alel yang tinggi (Varshney *et al.*, 2005). Aplikasi teknologi SSR membantu mempercepat proses pemuliaan tanaman, efektif dan akurat mengkarakterisasi plasma nutfah tanaman (Blair *et al.*, 1999).

Analisis marka molekuler menghasilkan banyak data biologi yang harus dihitung dan diinterpretasi secara akurat. Bioinformatika merupakan ilmu yang mengkombinasikan ilmu komputer, statistik, matematika, teknik analisis dan menginterpretasi data biologi. Bioinformatika telah diaplikasikan pada berbagai penelitian, termasuk dalam studi genetika tanaman jagung.

Reif *et al.* (2003) telah menerapkan teknik informatika dalam studi heterosis jagung tropis dan subtropis. Sementara Liu *et al.* (2005) melakukan studi aplikasi mikro satelit untuk pemuliaan jagung pulut atau jagung ketan. Nenov dan Vassilev (2006) melakukan analisis bioinformatika pada studi genetically modified organism (GMO) melalui proses introgressi dan rekombinasi DNA. Lawrence *et al.* (2005) mengembangkan database genom jagung yang menyediakan informasi genetik dengan *interface* berbasis website.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari bioinformatika genetika jagung kaya vitamin A sebagai dasar penentuan pasangan persilangan yang sesuai. Studi bioinformatika meliputi analisis polymorphism information content, kekerabatan inbrida jagung (*similarity*), dan klastering inbrida jagung provitamin A berdasarkan unweighted pair-group method based on arithmetic average (UPGMA).

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada April-Juli 2015 di Laboratorium Biologi Molekuler Balai Penelitian Tanaman Serealia, Maros, Sulawesi Selatan. Penelitian dilakukan terhadap bioinformatika, kekerabatan inbrida jagung, dan klastering inbrida jagung provitamin A.

Polimorphism Information Content (PIC)

PIC adalah penanda untuk mendeteksi tingkat polimorfisme dalam populasi (Boostein *et al.*, 1980), mengkuantifikasi jumlah alel atau pita yang dimiliki marker dan frekuensi dari setiap alel atau pita dalam populasi. Penanda dengan jumlah pita yang sedikit mempunyai kemampuan yang rendah dalam membedakan Operational Taxonomic Unit (OUT). Alel yang muncul pada frekuensi yang rendah sulit diidentifikasi. Oleh karena itu diperlukan PIC yang tinggi untuk menandai alel yang banyak dan terdistribusi secara merata dalam populasi (Anderson *et al.*, 1993).

Persamaan yang digunakan untuk menghitung nilai PIC adalah (Smith *et al.*, 1997):

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n f_i^2, i = 1, 2, 3, \dots, n$$

dimana f_i^2 adalah frekuensi alel ke-i.

Klastering Unweighted Pair-Group Method based on Arithmetic Average

Metode klastering berbasis UPGMA mengasumsikan molecular clock dan rooted tree, dimana perhitungan tingkat kemiripan genetik didasarkan pada jumlah total sekuen yang identik dan jumlah substitusi konservatif dalam penjejeran dua sekuen dengan gap yang diabaikan

Persamaan (*similarity*) dan jarak genetik (*genetic distance*) merupakan data "estimasi kuantitatif" yang menerangkan asosiasi atau perbedaan antara sepasang individu (unit). Nilai persamaan biasanya berkisar antara 0 (nol) dan 1 (satu). Bertambahnya nilai persamaan berarti bertambah pula nilai kemiripan (*likeness value*) pasangan individu yang dibandingkan. Sebaliknya, bertambahnya nilai kemiripan maka nilai jarak genetik akan berkurang (Sokal dan Sneath, 1963).

Matriks persamaan jarak genetik telah disusun berdasarkan data biner "ada – tidak ada pita DNA" pada

lokus tertentu. Data ini kemudian dimasukkan ke tabel 2 x 2, dimana nilai 1 menunjukkan "ada" dan nilai 0 berarti "tidak ada" pita DNA (band).

	OTU _i		
	a	b	N _{ji} 1
OTU _j	c	d	N _{jo}
	n _{ji} 1	n _{jo}	n

OTU = perational Taxonomic Unit (individu/specimen)

a = jumlah band (pita DNA) yang "ada" pada OTU_i dan OTU_j (*positive matches*)

b = jumlah band yang "ada" pada OTU_i dan "tidak ada" pada OTU_j

c = jumlah band yang "ada" pada OTU_j tapi "tidak ada" pada OTU_i

d = jumlah posisi yang "tidak ada" band pada OTU_i dan OTU_j (*negatif matches*)

n_{ji}1 = a + c yaitu jumlah posisi yang "ada" band pada OTU_i

n_{jo} = b + d yaitu jumlah posisi "tidak ada" band pada OTU_i

n_{ji}1 = a + b yaitu jumlah posisi yang "ada" band pada OTU_j

n_{jo} = c + d yaitu jumlah posisi band yang "tidak ada" pada OTU_j

n = a + b + c + d, jumlah pasangan yang "tidak ada" band (*negative matches*) ditambah dengan dua variabel lainnya yaitu:

m = a + d, yaitu jumlah pasangan yang sama posisi bandnya

u = b + c adalah jumlah pasangan yang tidak sama posisi bandnya

Koefisien Jaccard

Nilai koefisien Jaccard adalah indeks dimana nilai d (0-0 sepadan) tidak dimasukkan ke dalam perhitungan Ukuran ini memberikan bobot yang sama baik pada obyek yang sepadan maupun tidak sepadan. Koefisien Jaccard memberi penekanan pada perbedaan di antara OUT (Austin dan Colwell, 1977). Koefisien Jaccard dihitung dengan formula:

$$a = \frac{a}{a + b + c}$$

Berdasarkan rumus ini dapat ditentukan formula untuk menghitung jarak genetik menurut Dice yaitu:

$$D = 1 - S$$

Studi Kasus dan Deskripsi Data

Studi genetik menggunakan 10 inbrida jagung Provitamin A yang berasal dari dalam dan luar negeri (introduksi CIMMYT Meksiko). Sebanyak 10 biji dari masing-masing inbrida uji ditanam pada baki plastik (32 cm x 15 cm x 42 cm). Daun muda tanaman berumur 10-15 hari dipilih dari 5-8 individu tanaman setiap galur inbrida, kemudian diekstraksi DNA-nya.

Proses isolasi, pemurnian, dan penentuan konsentrasi DNA mengikuti prosedur George *et al.* (2004) yang dimodifikasi dengan mengganti nitrogen cair dengan bufer CTAB pada saat penggerusan jaringan segar tanaman (Khan *et al.*, 2004). Kualitas dan kuantitas DNA hasil ekstraksi diukur melalui elektroforesis horizontal 0,9% gel agarose dan nano spectrophotometer. Amplifikasi DNA menggunakan mesin PCR (Polymerase Chain Reaction) mengikuti prosedur George *et al.* (2004). Amplifikasi dilakukan 30 siklus, sesuai protokol CIMMYT (2004). Hasil PCR dipisahkan melalui proses elektroforesis vertikal menggunakan Dual Mini-Verticals Complete System MGV-202-33 dengan 8% gel poliakrilamid.

Penentuan Parameter Komponen Data

Penentuan nilai PIC dan Klaster genetik menggunakan Program Microsoft Excel dan NTSYS Versi 2.0. Penentuan jumlah alel dan PIC menggunakan prosedur sebagai berikut:

1. Penilaian/skoring data alel dengan angka 1 apabila alel muncul dan 0 apabila alel tidak muncul.
2. Penilaian homosigosias OTU dengan cara mengganti angka 1 pada setiap sel menjadi 2 dan tetap 1 apabila heterosigot.
3. Validasi jumlah alel (2) pada setiap individu pada setiap SSR, diikuti dengan penjumlahan alel-alel pada OTU.
4. Penentuan frekuensi kemunculan setiap alel dan pengkuadratan frekuensi.
5. Penentuan nilai PIC dengan cara mengurangi jumlah kuadrat frekuensi dengan angka 1

Selanjutnya dilakukan analisis data hasil pengamatan menggunakan software NTSYS-PC ver 2.1. Metode yang digunakan untuk menetapkan nilai matriks similarity dan dendogram adalah neighbor-joining atau metode UPGMA. Prinsip UPGMA adalah pada setiap iterasi dipilih pasangan point dengan point, atau point dengan cluster, atau cluster dengan cluster dengan jarak terpendek. Kedua pasangan ini digabung ke dalam satu

cluster. Pada NTSYS-pc, prosedur yang digunakan adalah sebagai berikut:

1. Penyiapan data binary kemunculan DNA (skor 1) dan tidak muncul (skor 0)
2. Penetapan jumlah total jumlah genotype yang digunakan serta jumlah pita maksimum yang terlihat
3. Penentuan matriks similarity antara setiap individu. Gunakan metode Jaccard untuk membuat matriks similarity diikuti dengan pembuatan dendrogram.
4. Comparasi matriks klastering SAHN dengan matrik similarity prosedur MXCOMP. Semakin tinggi nilai korelasi, makin baik akurasi dendrogram yang dihasilkan
5. Visualisasi data baik dalam bentuk grafik dua dimensi atau tiga dimensi dilanjutkan dengan analisis bootstrapping dengan menggunakan program winboot untuk mengetahui tingkat kepercayaan hasil dendrogram berdasarkan set primer yang digunakan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Informasi Polimorfisme Gen

Sebanyak 15 inbrida jagung Provit-A yang dikarakterisasi menggunakan 26 marka SSR dibedakan berdasarkan lokus SSR. Data keragaman alel pada setiap lokus dapat dilihat pada Tabel 1.

Analisis keragaman genetik diperlukan untuk mengetahui pola pengelompokan populasi genotipe dan karakter penciri setiap kelompok, sehingga dapat digunakan dalam seleksi tetua pada perakitan varietas. Dua puluh enam lokus SSR yang dianalisis memiliki kisaran relatif pasang basa 71,33-427 bp. Dari 15 inbrida uji diperoleh 72 alel dengan kisaran 2-6 alel/lokus, rata-rata 3 alel/lokus. Tingkat polimorfisme berkisar antara 0,12 ($\phi 072$) - 0,72 ($\phi 064$). Data ini mengindikasikan rata-rata variasi genetik dalam setiap karakter cukup

Table 1. Profil data 26 marka SSR hasil karakterisasi 15 inbrida jagung provit-A. Laboratorium Biologi Molekuler Balai Penelitian Tanaman Serealia. Maros, Sulawesi Selatan, April-Juli 2015.

No.	Primer	Bin no.	PIC	Jumlah alel	Kisaran Basa (bp)
1	phi109275	1,00	0,49	3	106 - 187,75
2	phi064	1,11	0,72	6	71,33 - 140
3	phi109642	2,00	0,36	3	132,66 - 182,5
4	nc133	2,05	0,13	3	115,42 - 145,5
5	phi101049	2,09	0,52	4	236,75 - 427
6	Phi374118	3,02	0,44	2	163,25 - 200
7	phi102228	3,04	0,48	2	109 - 125,3
8	umc1504	3,04	0,58	4	145,5 - 200
9	umc1136	3,10	0,52	3	132,7 - 200
10	phi072	4,00	0,12	2	140 - 151
11	phi079	4,05	0,34	2	187,75 - 280
12	umc1109	4,10	0,44	2	104,5 - 115
13	nc130	5,00	0,52	3	145,5 - 249
14	phi109188	5,03	0,31	2	163,25 - 200
15	phi331888	5,04	0,60	2	129 - 167,3
16	umc1143	6,00	0,53	2	74 - 88
17	phi423796	6,01	0,43	4	118 - 167,3
18	phi452693	6,06	0,69	4	118 - 200
19	phi299852	6,08	0,23	2	112 - 125,3
20	umc1545	7,00	0,23	2	72,4 - 82
21	phi034	7,02	0,29	3	118 - 145,5
22	phi114	7,02	0,36	2	129 - 170,6
23	phi233376	8,03	0,56	3	126,8 - 163,25
24	phi080	8,08	0,32	2	144,4 - 154,06
25	phi065	9,03	0,44	2	145,5 - 170,6
26	umc1196	10,07	0,54	3	134,5 - 200
Total				72	71,33 - 427
Rata-rata			0,43	3	

tinggi. Kemampuan marka dalam menghasilkan alel polimorfis tercermin dari nilai PIC. Dari profil data diketahui marka phi064 memiliki nilai PIC tertinggi yang berarti primer bisa menghasilkan sejumlah besar karakter berbeda antaraksesi.

Tingkat polimorfisme yang tinggi memberi indikasi variasi genetik masing-masing karakter inbrida cukup besar. Tingginya variabilitas genetik menambah keleluasaan memilih karakter yang diinginkan dalam perbaikan varietas. Dari profil data diketahui marka phi064 memiliki nilai PIC tertinggi (Tabel 2). Hal ini menunjukkan primer tersebut mampu membedakan lebih teliti karakter pembeda antarinbrida yang berkerabat dekat (Matthews *et al.*, 2007; Andayani *et al.*, 2016).

Data Binary dan Klastering

Data binary disiapkan sebelum diolah menjadi data yang lebih informatif. Pengkodean dan analisis data dilakukan melalui kompiling pita pengamatan dari 26 primer dan 15 inbrida jagung provitamin A. Data posisi pita diamati dengan memberi tanda '0' apabila pita tidak terlihat dan angka '1' apabila pita nya terekspresi/muncul (Rohlf, 2000).

Dengan asumsi jumlah primer yang digunakan 26 marker dan jumlah inbrida jagung provitamin A yang diuji 15 galur maka terdapat 150 kode binary data. Tampilan data binary kemunculan pita DNA jagung dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan hasil pengamatan, frekuensi

Tabel 2. Data binary pita DNA jagung. Laboratorium Biologi Molekuler Balai Penelitian Tanaman Serealia. Maros, Sulawesi Selatan, April-Juli 2015

CLP-5-2-1	CLP-6-2-3	CLP-6-3-1	CLP-6-4-2	CLP-8-2-3	CLP-11-5-1	CLP-12-1-1	CLP-17-1-#	CLP-30-2-1	CLP-33-4-5	CLP-33-5-6	CLP-39-1-1	CLP-39-3-4	CLP-40-1-1	B-16-1
0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1
0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0
1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0
1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0
1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0
1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	9	9
1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	9	9
0	0	1	0	0	9	1	0	0	0	0	9	0	0	1
1	1	1	1	1	9	0	1	1	1	1	9	1	1	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0
0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1

kemunculan pita tertinggi didapatkan pada Phi064, yaitu enam alel dan 31 pita DNA.

Software NTSYS 2.1 digunakan untuk menganalisis data klastering setelah mengkompilasi pita pengamatan dari 15 primer inbrida jagung kaya vitamin A. Data posisi pita diamati dengan memberi tanda '0' apabila pita tidak terlihat dan angka '1' apabila pita terekspresi (Rohlf, 2000).

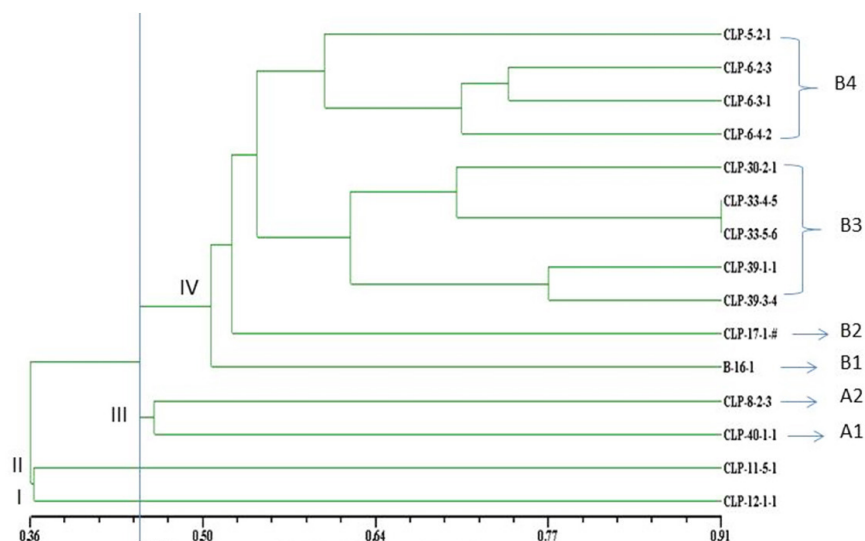
Hasil analisis keragaman genetik berdasarkan UPGMA terhadap matriks kemiripan genetik dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 1. Koefisien kemiripan genetik berkisar antara 0,36-0,91. Dari hasil klastering keragaman genetik 15 inbrida jagung provit-A pada koefisien kemiripan genetik 0,44 diperoleh empat group (I, II, III dan IV). Gambar 1 menunjukkan group I dan II terdapat pada level GD (*Genetic Diversity*) 0,44. Group III terdapat pada level GD 0,45 yang terbagi menjadi dua subgroup (A1 dan A2). Group IV terdapat pada level GD 0,503 yang terbagi menjadi empat subgroup (B1, B2, B3 dan B4).

Hasil penyebaran klastering SSR dapat dilihat sebagai berikut. Group I yaitu CLP-12-1-1. Group II adalah CLP-11-5-1. Group III terdiri atas dua subgroup yaitu CLP-40-1-1 dan CLP-8-2-3. Group IV terdiri atas empat subgroup yaitu B-16-1, CLP-17-1-#, CLP-39-3-4, CLP-39-1-1, CLP-33-5-6, CLP-33-4-5, CLP-30-2-1, CLP-6-4-2, CLP-6-3-1, CLP-6-2-3, dan CLP-5-2-1 (Gambar 2).

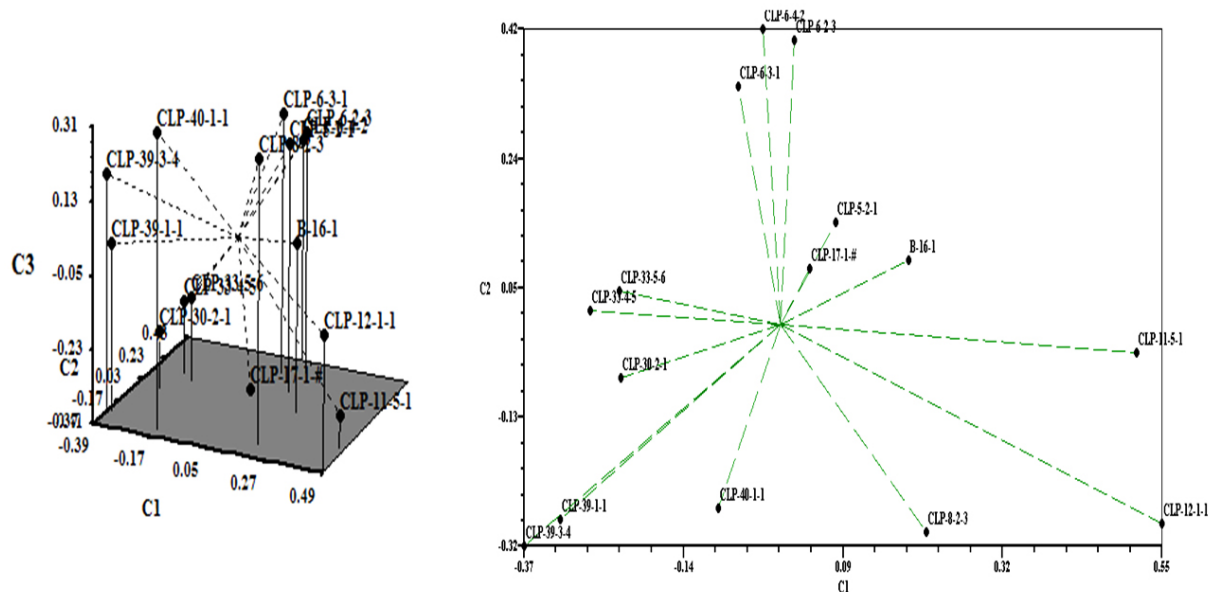
Galur-galur yang tidak terklaster berdasarkan fenotipe, adaptasi lingkungan, tipe atau warna biji, umur panen, atau respon heterotik, tapi berkerabat secara pedigree biasanya berada pada klaster yang sama (Warburton *et al.*, 2005). Penelitian Andayani *et al.* (2015) menunjukkan galur tersebut dibentuk dari populasi yang sama sehingga kekerabatannya lebih dekat. Group I dan II merupakan inbrida yang berdiri sendiri, yaitu pedigree CLP-12-1-1 dan CLP-11-5-1 yang berasal dari famili agak jauh, sehingga kekerabatannya juga agak jauh dan menyebar. Group III dan IV berasal dari famili berdekatan, didominasi oleh inbrida dengan inisial pedigree CLP-30, CLP-33, dan CLP-36, sehingga kekerabatannya sangat

Tabel 3. Klastering 15 galur inbrida jagung provit A. Laboratorium Biologi Molekuler Balai Penelitian Tanaman Serealia. Maros, Sulawesi Selatan, April-Juli 2015

Group	Subgroup	Galur inbrida
I		CLP-12-1-1
II		CLP-11-5-1
III	A1	CLP-40-1-1
	A2	CLP-8-2-3
IV	B1	B-16-1
	B2	CLP-17-1-#
	B3	CLP-39-3-4, CLP-39-1-1, CLP-33-5-6, CLP-33-4-5, CLP-30-2-1
	B4	CLP-6-4-2, CLP-6-3-1, CLP-6-2-3, CLP-5-2-1



Gambar 1. Dendrogram berbasis matriks similarity menggunakan metode analisis klaster UPGMA. Maros, Laboratorium Biologi Molekuler Balai Penelitian Tanaman Serealia. Maros, Sulawesi Selatan, April-Juli 2015



Gambar 2. Plot dua dimensi (2 D) dan tiga dimensi (3 D) hasil analisis PCA terhadap inbrida jagung provit-A. Laboratorium Biologi Molekuler Balai Penelitian Tanaman Serealia. Maros, Sulawesi Selatan, April-Juli 2015

dekat dan membentuk dalam satu kelompok heterotik. Inbrida CLP-33-4-5 dan CLP-33-5-6 mempunyai tingkat kepercayaan pengelompokan berdasarkan analisis *bootstrapping* cukup tinggi, yaitu 99,4%. Hal ini menunjukkan kekerabatan kedua inbrida sangat dekat dan stabil dalam kelompok.

KESIMPULAN

Tingkat polimorfisme 26 marka SSR yang digunakan rata-rata 0,43 dengan jumlah alel 72, rata-rata 3 alel/ lokus. Analisis keragaman genetik berdasarkan UPGMA terhadap matriks kemiripan genetik menghasilkan nilai koefisien kemiripan genetik dengan kisaran 0,36-0,91.

Berdasarkan hasil klastering keragaman genetik 15 inbrida jagung provit-A diperoleh koefisien kemiripan genetik 0,44 dan terbagi ke dalam empat group, yaitu group I, II, III dan IV. Group I dan II terdapat pada level GD 0,44. Group III terdapat pada level GD 0,45 yang terbagi menjadi dua subgroup, yaitu A1 dan A2. Group IV terdapat pada level GD 0,503 yang terbagi menjadi empat subgroup, yaitu B1, B2, B3 dan B4.

Pengelompokan genetik inbrida jagung provit-A yang diuji mengindikasikan variabilitas materi yang dikarakterisasi cukup tinggi. Tingkat polimorfisme tinggi mengindikasikan variasi genetik masing-masing karakter dari inbrida yang dianalisis cukup besar. Tingginya variabilitas genetik menambah keleluasaan dalam memilih karakter-karakter yang diinginkan untuk melakukan rekombinasi dalam perbaikan varietas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Sabran yang telah membantu perbaikan makalah ini dan tim laboran di Laboratorium Biologi Molekuler Balai Penelitian Tanaman Serealia, Maros (Haryati, Edita Dwi Jayanti dan Fristi Damanik) yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani, N.N., M. Yasin, H.G dan Marcia, B.P. 2015. Analisis Keragaman Genetik Inbrida Jagung Pro Vitamin A (Beta Karoten). Prosiding Seminar Nasional Serealia. Hlm. 83-90.
- Andayani, N.N., M. Yasin H.G dan Marcia, B.P. 2016. Keragaman Genetik Inbrida Jagung QPM dan Provit-A Berdasarkan Marka SSRs (Simple Sequence Repeats). Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan 35 (2) : 133 - 140.
- Anderson JA, Churchill GA, Sutrique JE, Tanksley SD and Sorrells ME (1993) Optimizing parental selection for genetic linkage maps. Genome 36:181-186.
- Austin, B and T.T, Colwell. 1977. Evaluation of Some Coefficients for Use in Numerical Taxonomy of Microorganisms International Association of Microbiological Societies 27 (3): p. 438-447.
- Blair, M.W., O. Panaud, and S.R. Mc Couch. 1999. Intersimple Sequence Repeat (Issr) Amplification for Analysis of Microsatellite Motif Frequency and Finger-Printing In Rice (*Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 98:780-792.

- Bwibo, N. O and Neumann C. G. 2003. Supplement: Animal source food to Improve Micronutrient Nutrition in Developing Countries. The American Society for Nutritional science. J. Nutr. 133-3936S-3940S. The journal of nutrition.
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., and Davis, R.W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32: 314- 331.
- Cong Khan, N. West, C. E. Pee, AD. Bosch, D. Phung, H.D. Hulshof, P.Jm. Khoi, H.H. Verhoef H. and Hautvast G.A.J. 2007. The Contribution of Plant Foods to The Vitamin A Supply of Lactating Women In Vietnam: A Randomized Controlled Trial. *American Journal of Crinical Nutrition* 85 (4) : 1112-1120.
- George, M.L.C., E. Regalado, Li W, M. Cao, M. Dahlan, M. Pabendon, Warburton, Xianchun, and D. Hoisington. 2004. Molecular Characterization of Asian Maize Inbred Lines by Multiple Laboratories. *Theor Appl Genet* 109:80-91.
- Khan, I.A., F.S. Awan, A. Ahmad, and A.A. Khan. 2004. A Modified Mini-Prep Method For Economical And Rapid Extraction Of Genomic DNA In Plants. *Plant Molecular Biology Reporter* 22:89a-89e.
- Lawrence CJ, Seigfried TE, Brendel V (2005) The Maize Genetics and Genomics Database. The community resource for access to diverse maize data. *Plant Physiol* 138: 55–58
- Liu YJ, Huang YB, Rong TZ, Tian ML, Yang JP (2005). Comparative analysis of genetic diversity in landraces of waxy maize from Yunnan and Guizhou using SSR markers. *Sci. Agric. Sinica.* 4: 648-653
- Matthews, P.D., R. Luo, and E.T. Wurtzel. 2007. Maize Phytoene Desaturase And Betacarotene Desaturase Catalyze A Poly-Z Desaturation Pathway: Implications For Genetic Engineering Of Carotenoid Content Among Cereal Crops. *J. Exp. Bot.* 54:2215-2230.
- Muladno. 2002. *Seputar Teknologi Rekayasa Genetika*. Pustaka Wirausaha Muda. Bogor. Hlm. 50-100.
- Nenov and D. Vassilev, 2006. Application of bioinformatics in GMO detection. *Biotechnotia*, 3 (74) 24–35 2006
- Nutra. 2008. Ala Can Benefit dry Eye Syndrome. News head lines research. *ingredients. com*. Breaking news on supplements and nutrition-Nort America: 639-686.
- Pixley, K.V. 2006. Hybrid and open-pollinated varieties in modern agriculture. In: K.R. Lamkey and M. Lee, editors, *Plant breeding: The Arnel R. Hallauer International Symposium*. Blackwell Publishing, Ames, IA: 10-15.
- Reif JC, Melchinger AE, Xia XC, Warburton ML, et al. (2003). Use of SSRs for establishing heterotic groups in subtropical maize. *Theor. Appl. Genet.* 107: 947-957
- Rohlf, F.J. 2000. NTSYSpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.1. *applied Biostatistic Inc*: 30-40.
- Science Daily. 2008. Science news. Economical Way To Boost Vitamin A Content Of Corn Found. Your source for the latest research news. USA. p. 2-4
- Smith J S, Chin E C, Shu H, Smith O S, Wall S J, Senior M L, Mitchell S E and Kresovich S and Zeigle J (1997) An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): comparisons with data from RFLPs and pedigree Theoretical and Applied Genetics 95 163-173
- Sokal, R.R. and Sneath, P.H.A. (1963). *Principles of Numeric Taxonomy*. W.H. Freeman, San Francisco, p. 100-120.
- Varshney, R., A. Graner, and M.E. Sorrells. 2005. Genic Microsatellite Markers In Plants: Feature and Applications. *Trend in Biotechnology* 23 : 48-56.
- Warburton, M.L., J.M. Ribaut, J. Farnco, J. Crossa., P. Dubreuil and F.J. Betran. 2005. Genetic Characterization Of 218 Elite Cimmyt Maize Inbred Lines Using Rflp Markers. *Euphytica* 142:97-106.
- Yasin, M., Sumarno, dan A. Nur. 2014. *Perakitan Varietas Unggul Jagung Fungsional*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. IAARD Press. Jakarta. Hlm. 30-60.